

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

16. 3. 2004

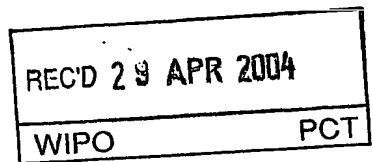
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 3月18日  
Date of Application:

出願番号 特願2003-074543  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP 2003-074543]

出願人 タマティーエルオー株式会社  
Applicant(s):



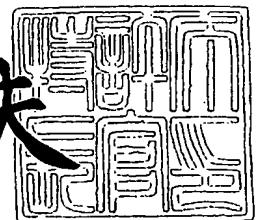
BEST AVAILABLE COPY

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 4月14日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 2002052-SK

【提出日】 平成15年 3月18日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 27/26

【発明の名称】 電極およびそれを用いたセンサー

【請求項の数】 12

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都八王子市丹木町 1 - 2 3 6 創価大学工学部内

    【氏名】 久保 いづみ

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都八王子市丹木町 1 - 2 3 6 創価大学工学部内

    【氏名】 前原 信義

【特許出願人】

    【識別番号】 800000080

    【氏名又は名称】 タマティーエルオー株式会社

    【代表者】 井深 丹

【代理人】

    【識別番号】 100094053

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 佐藤 隆久

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 014890

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 図面 1

    【物件名】 要約書 1

    【包括委任状番号】 0107002

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 電極およびそれを用いたセンサー

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

電極基材と、

前記電極基材における所定の測定対象物の計測のための電気化学的反応を発生させる物質を選択的に通過させる自己組織化単分子膜とを有する電極。

【請求項 2】

前記物質は、前記測定対象物と前記電極基材との間の電気化学的反応を仲介するメディエータである

請求項 1 に記載の電極。

【請求項 3】

前記自己組織化単分子膜の分子は、アルキル鎖とカルボキシル基とを有する  
請求項 1 または 2 に記載の電極。

【請求項 4】

1 本のアルキル鎖につき 1 個のカルボキシル基を有する

請求項 3 に記載の電極。

【請求項 5】

7-carboxy-1-heptanthiolにより前記自己組織化単分子膜を形成した

請求項 4 に記載の電極。

【請求項 6】

所定の測定対象物の計測に用いる作用電極と対向電極とを備えたセンサーであって、

前記作用電極は、

電極基材と、

前記電極基材における前記測定対象物の計測のための電気化学的反応を発生させる物質を選択的に通過させる自己組織化単分子膜とを有する

センサー。

【請求項 7】

前記物質は、前記測定対象物と前記電極基材との間の電気化学的反應を仲介するメディエータである

請求項 6 に記載のセンサー。

【請求項 8】

前記自己組織化単分子膜の分子は、アルキル鎖とカルボキシル基とを有する  
請求項 6 または 7 に記載のセンサー。

【請求項 9】

1 本のアルキル鎖につき 1 個のカルボキシル基を有する  
請求項 8 に記載のセンサー。

【請求項 10】

7-carboxy-1-heptanthiolにより前記自己組織化単分子膜を形成した  
請求項 9 に記載のセンサー。

【請求項 11】

前記作用電極に電極反應電位を印加する電位印加手段と、  
前記作用電極と前記対向電極との間に流れる電流に応じて前記測定対象物の濃度を算出する演算手段と  
をさらに有する  
請求項 6 ～ 10 のいずれかに記載のセンサー。

【請求項 12】

参照電極をさらに有し、  
前記電位印加手段は、前記参照電極の電位に対して所定の電位を前記作用電極に印加する  
請求項 11 に記載のセンサー。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、電気化学的反應により測定対象物を計測するセンサー、およびこの

センサーに用いられる電極に関する。特定的には、本発明は、測定対象物の計測のための電気化学的反応に干渉する夾雑物質の影響を低減するセンサー、およびこのセンサーに用いる電極に関する。

#### 【0002】

##### 【従来の技術】

電気化学的反応を利用して試料中の測定対象物を計測する化学センサー、バイオセンサーが種々知られている。これらのセンサーの一種として、測定対象物と電極とを反応させるための物質を自己組織化単分子膜によって電極に固定したセンサーが知られている。

#### 【0003】

上記のような自己組織化単分子膜を用いたセンサーを含めて、従来の多くのセンサーが測定する試料中には、測定対象物以外の夾雑物として、測定対象物と電極との電気化学的反応に干渉する干渉物質が含まれている場合がある。そしてこの干渉物質が測定対象物の測定結果に影響を与えていることが指摘されている。測定結果に影響を与える干渉物質として、たとえば、アスコルビン酸や尿酸が知られている。たとえば、フルクトース（果糖）の計測において試料中にアスコルビン酸が含まれていると、フルクトースの酸化反応に起因する電流とアスコルビン酸の酸化反応に起因する電流の両方が電極に流れるため、フルクトースの濃度を正確に計測することが困難である。

#### 【0004】

従来は、生体試料中に比較的多量に存在する、アスコルビン酸や尿酸等の夾雑物質による電気化学的反応を防止するためには、親水性の高分子膜であるNafion（商標名）が用いられていた。

#### 【0005】

##### 【発明が解決しようとする課題】

ところで、上述のようにセンサーのなかには自己組織化単分子膜を用いたものが存在する。自己組織化単分子膜によって干渉物質の影響を抑制することができれば、Nafionのような構成要素をセンサーに追加する必要がなくなる。

しかしながら、従来は、自己組織化単分子膜は電極と測定対象物とを反応させ

るための物質を電極に固定するためだけに用いられていた。

#### 【0006】

したがって、本発明の目的は、自己組織化単分子膜を用いて測定対象物の計測における干渉物質の影響を抑制し、計測精度を向上可能な電極、およびこの電極を用いたセンサーを提供することにある。

#### 【0007】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明に係る電極は、電極基材と、当該電極基材における所定の測定対象物の計測のための電気化学的反応を発生させる物質を選択的に通過させる自己組織化単分子膜とを有する。

#### 【0008】

また、本発明に係るセンサーは、所定の測定対象物の計測に用いる作用電極と対向電極とを備えたセンサーであって、前記作用電極は、電極基材と、当該電極基材における前記測定対象物の計測のための電気化学的反応を発生させる物質を選択的に通過させる自己組織化単分子膜とを有する。

#### 【0009】

本発明においては、作用電極の電極基材に設けられている自己組織化単分子膜が、測定対象物の計測のための電気化学的反応を発生させる物質を選択的に通過させる。作用電極の電極基材に所定の電位を印加しておくこと、自己組織化単分子膜を通過した物質と電極基材との間において電気化学的反応が発生する。この電気化学的反応に伴って、作用電極と対向電極との間に電流が流れる。測定対象物の濃度に応じたこの電流を検出し、検出した電流から測定対象物の濃度を算出する。

#### 【0010】

##### 【発明の実施の形態】

以下、添付図面を参照しながら本発明の実施の形態について述べる。

図1は、本発明に係るセンサーの一実施の形態の概略構成図である。

図1に示すセンサー10は、濃度が測定される測定対象物が溶解している試料溶液5を入れる測定バイアル3と、この試料溶液5内に浸漬される白金(Pt)線

11と、修飾電極12と、銀／塩化銀（Ag／AgCl）電極13とを有する。

センサー10は、電位印加手段としてのポテンショ・ガルバノスタット（potentiostat）装置7、および、演算処理手段としてのコンピュータ9とをさらに有する。

#### 【0011】

なお、本実施の形態においては、測定対象物の一例としてフルクトースを取り上げ、センサー10を用いてフルクトースの濃度を測定する場合について述べる。しかしながら、本発明は、修飾電極12の構成を変えることによってフルクトース以外の生体物質および化学物質の計測に適用することも可能である。

#### 【0012】

白金線11、修飾電極12、および銀／塩化銀電極13は、たとえば、図示しない上蓋に固定されて測定バイアル3に装着される。

白金線11、修飾電極12、および銀／塩化銀電極13は、ポテンショ・ガルバノスタット装置7に接続されている。

ポテンショ・ガルバノスタット装置7は、コンピュータ9にさらに接続される。

#### 【0013】

ポテンショ・ガルバノスタット装置は、作用電極（WE）の電位をある範囲内に制御するポテンシostatとしての機能と、微少電流を検出するガルバノスタットとしての機能を併せ持つ装置であり、一般的に、電気化学測定に用いられている。

図1におけるその作用を説明すると、ポテンショ・ガルバノスタット装置7は、作用電極（WE）に所定の電位を印加して電極反応を作用電極（WE）で起こさせる。作用電極（WE）において、電子が溶液中の物質に与えられる反応が起きた場合、その反対の反応（溶液中の物質から電子を渡す反応）を別の電極である対向電極（CE）で起こさせることにより回路に電流が流れるという原理で電気化学的反応を測定する。

#### 【0014】

作用電極（WE）に所定の電位を印加する際に、本実施の形態においては、ポテ



ンショ・ガルバノスタット装置 7 は作用電極 (WE) および対向電極 (CE) とは別の参照電極 (RE) に所定の電位を与えておく。そして、参照電極 (RE) への印加電位を基準として、作用電極 (WE) に所定の電位を印加する。

#### 【0015】

本実施の形態のセンサー 10 においては、修飾電極 12 が作用電極 (WE) の一実施態様であり、白金線 11 が対向電極 (CE) の一実施態様であり、銀／塩化銀電極 13 が参照電極 (RE) の一実施態様である。

対向電極 (CE) としては、白金線以外にも、たとえば銀／塩化銀 (Ag/AgCl) 電極を用いることができる。また、参照電極 (RE) としては、銀／塩化銀電極以外に、たとえば飽和カロメル電極を用いることもできる。

#### 【0016】

図 2 は、本実施の形態に係る修飾電極 12 の一実施形態の構成図である。図 2 (a) がその平面図であり、図 2 (b) が図 2 (a) における断面 I-I から見た断面図である。

#### 【0017】

本実施の形態に係る修飾電極 12 は、フルクトースの濃度を測定するために、選択性自己組織化単分子膜 18 によって修飾した金電極 16 に酵素の一種であるフルクトース・デヒドロゲナーゼ (FDH: fructose dehydrogenase) を固定化した電極である。

金電極 16 が本発明における電極基材の一実施態様である。

FDH が固定化された金電極 16 は、たとえば、ガラスやプラスチック製の基板 15 に固着される。

その金電極 16 の表面を覆うように、選択性自己組織化単分子膜 18 が直接貼着されている。

金電極 16 には、電位の印加および電流の測定のための電線 W0 が接続されている。

#### 【0018】

FDH は、3 つのサブユニットからなる分子量 140,000 Da の膜結合の pyrroloquinoline quinone (PQQ) 依存オキシレダトクターゼである。FDH は PQQ と強く

結合している。

FDHはD-フルクトースを5-ケト (keto) -フルクトース (fructose) に酸化し、PQQはPQQH<sub>2</sub>に還元される。

#### 【0019】

本実施の形態においては、FDHによるフルクトースの酸化反応を、メディエータ (調停手段または電気化学活性種) を用いて仲介することによって金電極 16 における電気信号に変換する。この電気信号を検出することによって、フルクトースの存在を検知することができる。

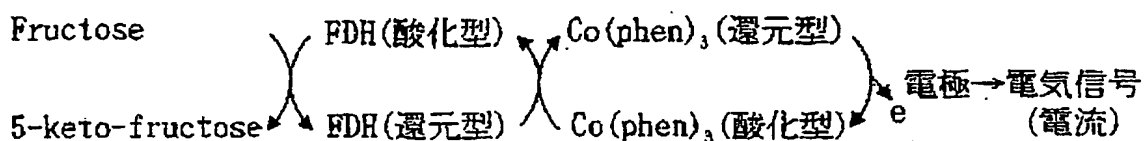
メディエータとしては、たとえば、コバルトフェナントロリン錯体またはフェナントロリンコバルト錯体[Co (phen) <sub>3</sub><sup>2+</sup>] (phenanthroline cobalt (II) complex) を用いる。Co (phen) <sub>3</sub><sup>2+</sup>は、調整が容易であり、可逆的な酸化還元が可能であり、酸化還元電位が比較的低電位でフェナントロリンを配位子とする他の金属錯体の中で最も低いという利点を有する。

Co (phen) <sub>3</sub><sup>2+</sup>は、たとえば、溶液として試料溶液 5 に混入しておく。

上述のフルクトースの検出原理を表わす概念図を以下に示す。

#### 【0020】

##### 【数1】



#### 【0021】

本実施の形態においては、FDHを金電極 16 に固定するために、自己組織化単分子膜 18 を利用している。図 3 は、自己組織化単分子膜 18 を介したFDHの金電極 16 への固定化の概念を示す図である。

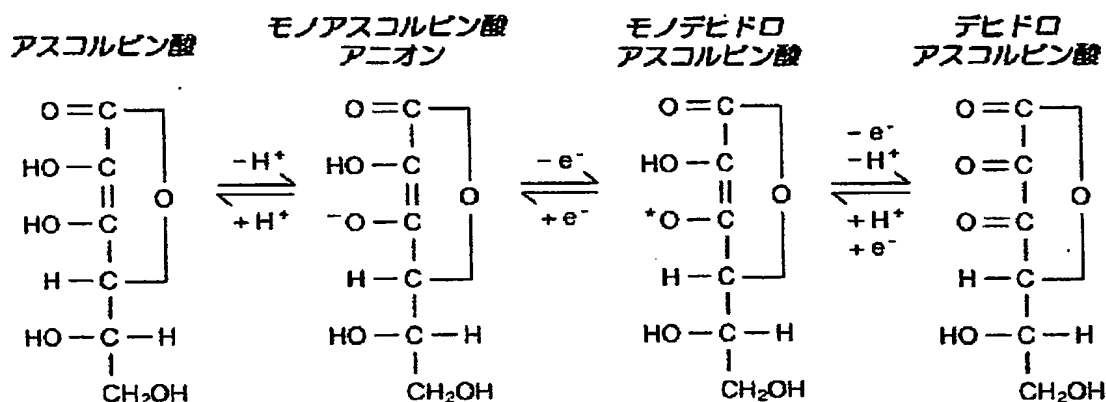
#### 【0022】

図 3 に示すように、自己組織化単分子膜 18 を介してFDHを金電極 16 に固定する場合には、自己組織化単分子膜 18 は、金電極 16 における測定対象物の計測のための電気化学的反応を発生させる物質のみを通過させることが好ましい。

たとえば、 $\text{Co}(\text{phen})_3^{2+}$ 等のメディエータは通過させて、試料溶液 5 中のアスコルビン酸や尿酸などの夾雑物は通過させずに金電極 16 から退けさせることが、センサー 10 の選択性および測定精度向上のために好ましい。アスコルビン酸や尿酸は、測定対象物であるフルクトースが含まれている野菜や果実、血液や尿中に比較的多量に含有されており、金電極 16 において酸化反応を生じる。下記図は、アスコルビン酸の酸化還元反応を示す図である。

## 【0023】

## 【化1】



## 【0024】

アスコルビン酸は、モノアスコルビン酸アニオン、モノデヒドロアスコルビン酸を経る酸化反応において水素 2 原子を失い、デヒドロアスコルビン酸となる。その際に、モノデヒドロアスコルビン酸に係る反応において電流が流れる。

このように、金電極 16 近傍にアスコルビン酸が存在すると、金電極 16 に電極反応電位が印加された場合にアスコルビン酸自体が酸化して電流が流れる。このため、試料溶液 5 中にアスコルビン酸が含まれていると、フルクトースに基づく金電極 16 における電極反応に干渉する干渉物質として振る舞い、センサー 10 によるフルクトース濃度の測定精度を低下させる。尿酸についても同様にそれ自体が酸化して干渉物質として振る舞う。

## 【0025】

しかしながら、本実施の形態においては自己組織化単分子膜 18 が、アスコル

ビン酸や尿酸などの夾雑物を退けて金電極 16 への到達を阻む。

測定対象物の計測のための電気化学的反應を発生させる物質を選択的に通過させるため、本実施の形態に係る自己組織化単分子膜 18 は、選択性自己組織化単分子膜であると言える。

#### 【0026】

本実施の形態においては、たとえば、7-carboxy-1-heptanthiol (7C) により自己組織化単分子膜 18 を形成する。

チオール化合物は金表面と反応して金-システアミン (Au-S) 結合を形成する。なかでも、7C等のアルカンチオール化合物を用いると、図3に示すように、Au-S結合に加えてアルキル鎖 20 同士のファンデルワールス (Van der Waals) 相互作用も働くため、高い配向性を有する欠陥のない単分子膜を作製可能である。このような単分子膜を自己組織化単分子膜という。

#### 【0027】

自己組織化単分子膜 18 による金電極 16 の修飾は、チオール化合物の溶液中に金電極 16 を浸漬するだけで可能である。

本実施形態においては、FDHは7Cによる自己組織化単分子膜 18 のアルキル鎖 20 に結合する。これにより、FDHは金電極 16 に固定される。

#### 【0028】

7Cによる選択性自己組織化単分子膜 18 は、そのカルボキシル基によりアスコルビン酸や尿酸等の水溶性で電気化学的に活性な干渉物質を反発させて退け、金電極 16 への到達を阻む。

なお、7Cによる自己組織化単分子膜 18 は、1本のアルキル鎖 20 につき1個のカルボキシル基を有する。

#### 【0029】

以上のような構成のセンサー 10 を用いて試料溶液 5 中のフルクトース濃度を測定する場合には、ポテンショ・ガルバノスタット装置 7 が参照電極 (RE) である銀/塩化銀電極 13 に電線 W4 を介して所定の電位を正確に印加する。

さらに、ポテンショ・ガルバノスタット装置 7 は、銀/塩化銀電極 13 への印加電位を基準として、修飾電極 12 に接続されている電線 W1 および W2 を介して

、修飾電極 12 に所定の電位を印加する。修飾電極 12 に印加する電位は、たとえば、 $\text{Co(phen)}_3^{2+}$  と金電極 16 との前述のような電極反応が発生する電位である。

電気化学的反應が生じず値が変動しない参照電極 13 の電位を基準として修飾電極 12 に電位を印加することにより、修飾電極 12 の電位を保ち電極反應の進行に伴う電位の変動を無くすることができる。

#### 【0030】

試料溶液 5 中のフルクトースを FDH が酸化することによって、還元型のコバルトフェナントロリン錯体が生じる。この還元型のコバルトフェナントロリン錯体を選択性自己組織化単分子膜 18 を通過して金電極 16 表面において酸化することによって、金電極 16 に電気信号が発生する。

また、測定バイアル 3 の試料溶液 5 中にアスコルビン酸や尿酸等の夾雑物が存在したとしても、夾雑物は選択性自己組織化単分子膜 18 によって金電極 16 への到達を阻まれる。

#### 【0031】

ポテンショ・ガルバノスタット装置 7 は、修飾電極 12 の金電極 16 に接続されている電線 W0 に繋がっている電線 W1 と、白金線 11 に接続されている電線 W3 との間に発生する電流を受け入れて、コンピュータ 9 に送出する。そのような電流が試料溶液 5 中のフルクトース濃度を示している。

なお、ポテンショ・ガルバノスタット装置 7 において、上記受け入れた電流を必要に応じて増幅し、電圧信号に変換してコンピュータ 9 に送出してもよい。

#### 【0032】

コンピュータ 9 は、たとえばメモリに事前に記憶されているフルクトース濃度と電流との関係式を意味するフルクトース濃度の検量線に基づいて、測定バイアル 3 内のフルクトース濃度が未知の試料溶液 5 の測定電流値からフルクトース濃度を決定する。

コンピュータ 9 は、算出したフルクトース濃度を、たとえばその表示器に表示出力する。

#### 【0033】

上述した本発明の一実施の形態に係るセンサー 10 においては、作用電極 12 の金電極 16 を、測定対象物の計測のための電気化学的反応を発生させる物質を選択的に通過させる自己組織化単分子膜 18 によって修飾して FDH を固定している。このため、測定のための電気化学的反応以外の反応を発生させる干渉物質の金電極 16 への到達を防ぐことができる。その結果、作用電極 12 の選択性が向上し、センサー 10 による測定対象物の測定精度が向上する。

選択性自己組織化単分子膜 18 はチオール化合物の溶液中に金電極を浸漬するだけで作製できるため、作用電極 12 およびセンサー 10 を低価格で簡便に製造することが可能になる。

#### 【0034】

また、 $\text{Co(phen)}_3^{2+}$  をメディエータとして FDH を用いてフルクトースの濃度を測定するため、酸化還元滴定法やガスクロマトグラフィー法のように装置や測定方法が複雑ではなく、簡便にフルクトース濃度を測定することができる。また、FDH 以外の他の酵素的手法に基づくセンサーのようにブドウ糖に反応することがないため、ブドウ糖の影響を取り除くための労力を必要とせず、簡便かつ高精度にフルクトースの濃度を測定することができる。

さらに、本実施の形態においては、作用電極 (WE)、対向電極 (CE)、および参照電極 (RE) の三つの電極を用い、参照電極 (RE) に印加した電位を基準として作用電極 (WE) に電極反応電位を印加する三電極系によって測定を行なう。このため、電極反応に伴う作用電極 (WE) の電位の変動を抑制し、さらに高精度な測定が可能となる。

#### 【0035】

##### 実験例

以下では、7C を用いて形成した自己組織化単分子膜 18 が、アスコルビン酸を退かせるという選択性を有することを確認するための実験の一例について述べる。

アスコルビン酸は、上述のようにそれ自体が金電極 16 の表面において酸化することによって金電極 16 における電極反応に干渉する。このため、フルクトースの測定のための電気化学的反応におけるアスコルビン酸の影響を調べるにあた

りフルクトースを酸化させるためのFDHは必要ない。したがって、7Cにより形成した自己組織化単分子膜18のみを修飾した作用電極を用いてアスコルビン酸による電気化学反応を計測する。

#### 【0036】

図4が、本実験において用いる修飾電極の断面図である。図4に示す修飾電極30は、図2(b)に示す修飾電極12からFDHを取り除いたものである。このため、同一構成要素には同一符号を付し、詳細な記述は省略する。

図4に示す修飾電極30においても、修飾電極12と同様に、Au-S結合により金電極16に7Cを直接修飾して選択性自己組織化単分子膜18を形成している。

。

#### 【0037】

図1に示す三電極系のセンサー10において修飾電極12の代わりに上記の修飾電極30を作用電極(WE)として用いて、印加電位と電極反応との関係を調べるサイクリックボルタンメトリー(Cyclic Voltammetry: CV)測定をアスコルビン酸に対して行なった。

修飾電極12の代わりに修飾電極30を用いる点以外はセンサー10の構成および機能は同じであるため、詳細な記載は省略する。

#### 【0038】

測定バイアル3には、試料溶液5として0.6 mM (M=mol/l)のアスコルビン酸溶液を入れた。試料溶液5中には、窒素ガスを継続的に注入した。

以上の条件のもとで、作用電極(WE)である修飾電極30に印加する電位を、掃引速度10 mV/secで増加させた後に減少させて掃引し、修飾電極30と対向電極である白金線11との間に流れた電流を検出することによりサイクリックボルタモグラムを得た。

#### 【0039】

比較のために、FDH、Glutamate、および(N-5-Amino-1-Carboxypentyl) imino diacetic acid (AB-NTA)によって金電極16を修飾した作用電極(WE)をそれぞれ作製し、7Cを修飾した作用電極(WE)を用いた場合と同様のCV測定を行なった。

FDH修飾電極は、金電極16に0.5mg/ml Cystamine、5% Glutaraldehydeを修飾し、アルデヒド基を導入した後に、0.5mg/ml FDHを固定して作製した。Glutamate修飾電極およびAB-NTA修飾電極は、上述のFDH修飾と同様にGlutaraldehydeを固定した後に、GlutamateおよびAB-NTAのみをそれぞれ修飾して作製した。

なお、Glutamate分子はアルキル鎖を持たないが、カルボキシル基を2個有する。また、AB-NTAは1本のアルキル鎖につき3個のカルボキシル基を有する。

#### 【0040】

上記4つの作用電極(WE)のそれぞれに対するサイクリックボルタモグラムの図5に示す。

図5において、横軸は作用電極(WE)に印加した電位[mV]であり、縦軸はポテンショ・ガルバノスタット装置7が検出した電流[A]である。

また、△印がAB-NTA修飾電極を用いた場合の結果であり、□印がGlutamate修飾電極を用いた場合の結果である。×印はFDH修飾電極を用いた場合の結果を示しており、○印は7C修飾電極を用いた場合の結果を示している。

電位を増加させた後に減少させて掃引するため、1つの電位について2つの電流の値がプロットされている。

図5において、電流の値が大きいほど、金電極16においてアスコルビン酸の酸化反応が起きていることを表わしている。

#### 【0041】

図5に示すように、FDH修飾電極の結果を基準としてみると、Glutamate修飾電極およびAB-NTA修飾電極を用いた場合には、ピーク電流はほとんど変わらないか、むしろ大きくなっている。この結果から、GlutamateおよびAB-NTAによる修飾では、金電極16におけるアスコルビン酸の酸化反応の防止において良い効果を得ることができないことが分かる。

#### 【0042】

一方、7C修飾電極を用いた場合には、図5から明らかなようにアスコルビン酸の酸化反応がほとんど見られなくなった。

このことから、7C修飾電極は、アスコルビン酸の酸化反応の防止のために非



常に効果的であると言える。

#### 【0043】

7C修飾電極がアスコルビン酸の酸化反応防止に効果があるのは、7C分子においてアルキル鎖1本につき1個存在するカルボキシル基がアスコルビン酸を反発させるためであると考えられる。

AB-NTAにはアルキル鎖1本につき3個のカルボキシル基が存在し、Glutamateは1つの分子に2個のカルボキシル基を有するが、アルキル鎖を持たない。

この考察から、アルキル鎖を有し、かつ、1本のアルキル鎖について1個のカルボキシル基を有する物質によって形成した自己組織化単分子膜を有する作用電極が、アスコルビン酸の酸化反応防止のために効果的であると考えられる。

#### 【0044】

前述の実験から、7C修飾電極はアスコルビン酸の酸化反応の防止に効果的であることは分かった。しかし、フルクトースセンサーとして用いるためには、7C修飾電極がメディエータに対して電極反応を発生することが必要である。これを確かめるために、メディエータとして1mMのCo(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>溶液を測定バイアル3に入れ、7C修飾電極を作用電極(WE)として用いたセンサー10によってCV測定を行なった。その結果を図6に示す。

#### 【0045】

図6に示すサイクリックボルタモグラムの横軸および縦軸は、図5と同様に作用電極(WE)に印加した電位[mV]およびポテンショ・ガルバノスタット装置7が検出した電流[A]をそれぞれ表わしている。

図6に示すように、約200[mV]において酸化電流のピークが見られ、約100[mV]において還元電流のピークが見られた。以上のことから、7C修飾電極によってCo(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>の酸化還元反応が生じることが確認できた。

#### 【0046】

上述のCo(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>に対するCV測定は、7Cの濃度を0.05~0.2mg/mlの範囲において変化させて自己組織化単分子膜18を形成した7C修飾電極をそれぞれ用いて複数回行なった。その結果、7C濃度が0.15mg/mlの時に、Co(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>の酸化電流ピーク値が、それと同じ電圧でのアスコルビン酸電流値に

比べ約 1257 倍と比較的高く、Co (phen)  $3^{2+}$  の酸化反応に対する、アスコルビン酸の干渉が最小であった。

この結果から、7C による自己組織化単分子膜 18 は Co (phen)  $3^{2+}$  を選択的に通過させ、7C 修飾電極はフルクトース測定のための選択性を有すると言える。

#### 【0047】

7C 修飾電極が実際にフルクトースセンサーとして機能するかどうかの確認実験を行なった。修飾濃度 0.15 mg/ml の電極で、Co (phen)  $3^{2+}$  液中に FDH 濃度 3 mg/ml になるように FDH を溶かして CV 測定を行なった後に、フルクトースを滴下して 1 mM となるようにし、CV 測定を行なった。

その結果、フルクトースを加えなかった時に比べ、加えた時は酸化電流値が約 1.23 倍に増大した。すなわち、FDH によるフルクトースの酸化反応が、Co (phen)  $3^{2+}$  より金電極 16 での酸化電流として計測された。

#### 【0048】

以上により、7C 修飾電極を有するセンサーがフルクトースセンサーとして実用的に使用可能であることが言える。7C 修飾電極を有するフルクトースセンサーは、アスコルビン酸の干渉を抑制することができるため、フルクトースに対する選択性が高く、測定精度が従来よりも高い。

#### 【0049】

##### 変形形態

図 7 は、本発明の実施の形態の変形形態に係るセンサーモジュールの平面図である。

図 7 に示すセンサーモジュール 100 は、作用電極 (WE) としての修飾電極 120 と、対向電極 (CE) としての白金電極 110 を、ガラスやプラスチック等の基板 150 に対向させて一体的に設置したものである。

#### 【0050】

修飾電極 120 は、図 2 に示す修飾電極 12 と同様に、金電極の表面に選択性自己組織化単分子膜を形成して FDH を固定したものである。

修飾電極 120 は電線 W0 を介して、白金電極 110 は電線 W3 を介して、それぞれポテンショ・ガルバノスタット装置 7 に接続される。

以上の構成により、図 1 に示す修飾電極 12 と白金線 11 とをモジュール化したセンサーが得られる。

#### 【0051】

本変形形態によれば、電極をモジュール化することにより、小型で取り扱いの簡便なセンサーを作成することができる。

#### 【0052】

以上、本発明の実施の形態について述べたが、本発明は上記の実施の形態に限定されない。

たとえば、アルキル鎖 1 本につき 1 個のカルボキシル基を有する自己組織化単分子膜 18 は、アスコルビン酸だけでなく、尿酸等の水溶性で電気化学的に活性な他の物質も退けて電極基材に近づけないようにすることができる。

また、選択性自己組織化単分子膜 18 は、メディエータではなく測定対象物を直接的に通過させてもよい。選択性自己組織化単分子膜 18 が選択的に通過させる物質は、選択性自己組織化単分子膜 18 を形成する物質を選択することにより適宜選択することができる。このため、本発明においては、測定対象物に応じて自己組織化単分子膜に選択性を持たせて、測定対象物を検出するセンサーに用いることが可能である。

本発明においては、実施の形態において述べたフルクトースセンサーだけでなく、たとえば、グルコースセンサー等の種々のバイオセンサーを構成することができる。また、たとえば、選択性自己組織化単分子膜 18 によりカテコールアミンを直接的に通過させて検出するカテコールアミンセンサー等の種々の化学センサーを構成することもできる。選択性自己組織化単分子膜 18 により測定対象物を直接的に通過させれば、FDH やメディエータ等の他の構成要素を用いる必要がなく、作用電極およびセンサーの構成が簡単になる。

#### 【0053】

さらに、三電極系ほどの測定精度は得られない可能性はあるが、参照電極 (RE) 13 を除いた二電極系によってセンサーを構成してもよい。二電極系にすることにより、センサーのさらなる小型化、低価格化が可能になる。

なお、センサーに用いる対向電極 (CE) には、用途に応じて白金メッシュ、白

金板等の種々の形態の電極を用いることができる。また、自己組織化単分子膜により修飾する電極基材についても、金以外の他の金属を用いることが可能であり、板状、線状等の様々な形状にすることが可能である。ただし、センサー用の電極基材としては、金が最も優れている。

また、本発明に係るセンサーは、測定対象物に応じて、食品工学、臨床学、工学、化学等の種々の分野に適用することができる。

#### 【0054】

#### 【発明の効果】

以上のように、本発明によれば、自己組織化単分子膜を用いて測定対象物の計測における干渉物質の影響を抑制し、計測精度を向上可能な電極、およびこの電極を用いたセンサーを提供することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

本発明に係るセンサーの一実施の形態の概略構成図である。

##### 【図2】

(a) は本発明に係る修飾電極の一実施形態の構成を示す平面図であり、(b) は (a) における断面I-Iから見た断面図である。

##### 【図3】

自己組織化単分子膜を介したFDHの金電極への固定化の概念を示す図である。

##### 【図4】

自己組織化単分子膜の選択性の確認実験において用いる修飾電極の断面図である。

##### 【図5】

自己組織化単分子膜の選択性の確認実験において得られた、アスコルビン酸に対するサイクリックボルタモグラムである。

##### 【図6】

自己組織化単分子膜の選択性の確認実験において得られた、 $\text{Co(phen)}_3^{2+}$ に対するサイクリックボルタモグラムである。

##### 【図7】

本発明の実施の形態の変形形態に係るセンサーモジュールの平面図である。

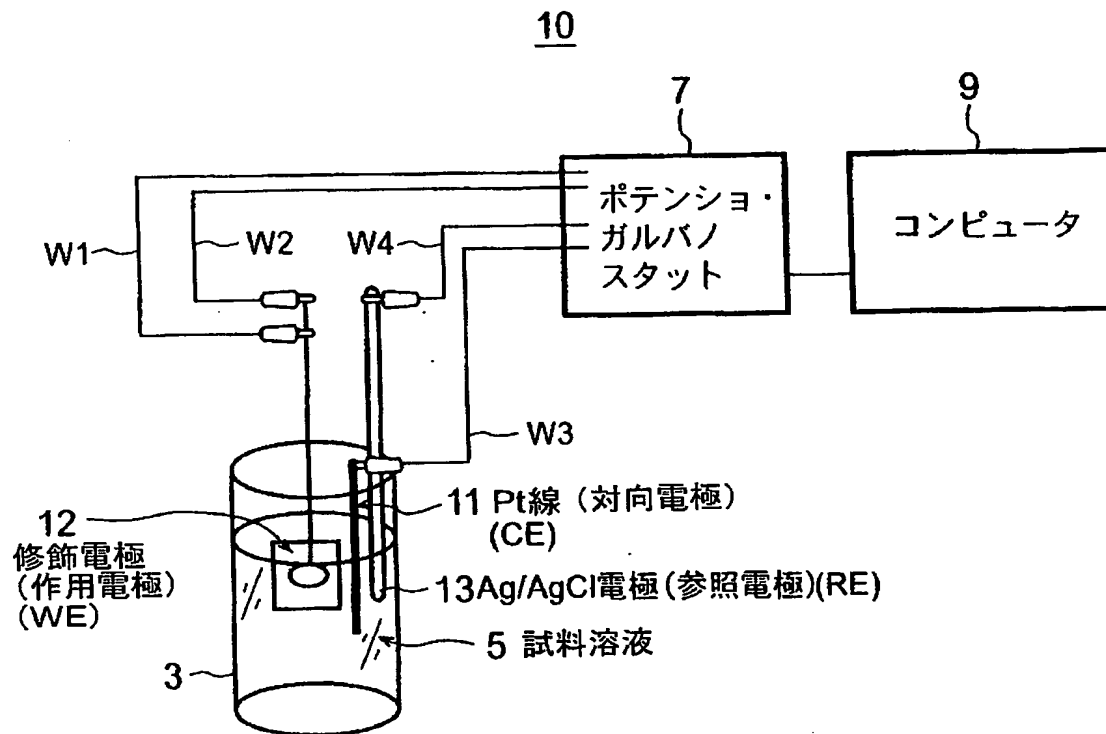
【符号の説明】

10…センサー、3…測定バイアル、5…試料溶液、7…ポテンシヨ・ガルバナスタット装置、9…コンピュータ、11…白金線、12, 120…修飾電極、13…銀／塩化銀電極、15, 150…基板、16…金電極、18…自己組織化単分子膜、100…センサーモジュール、110…白金電極、W0～W4…電線

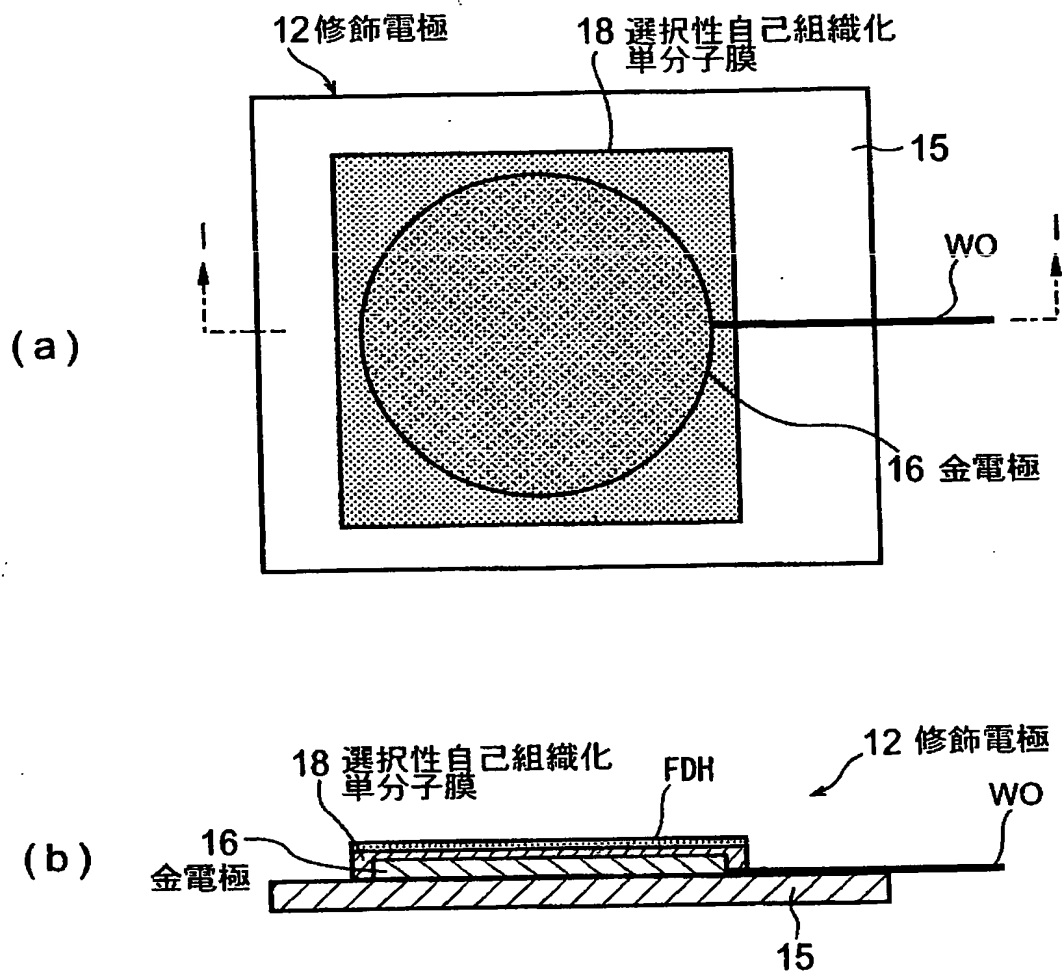
【書類名】

図面

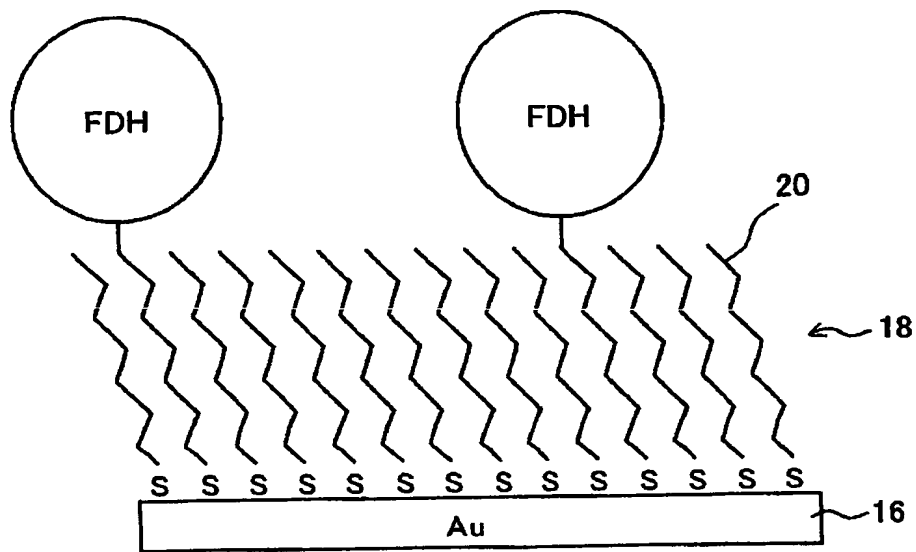
【図 1】



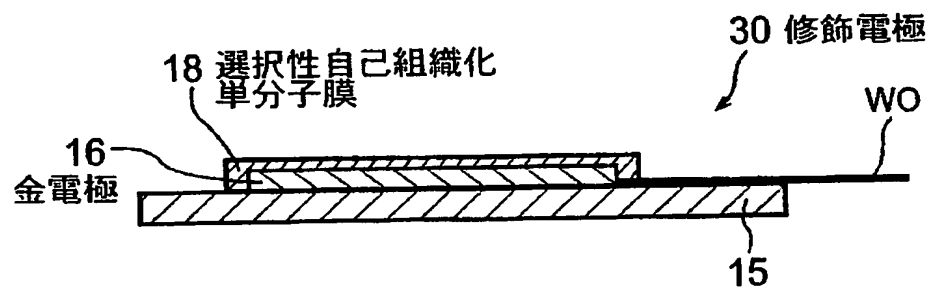
【図 2】



【図 3】

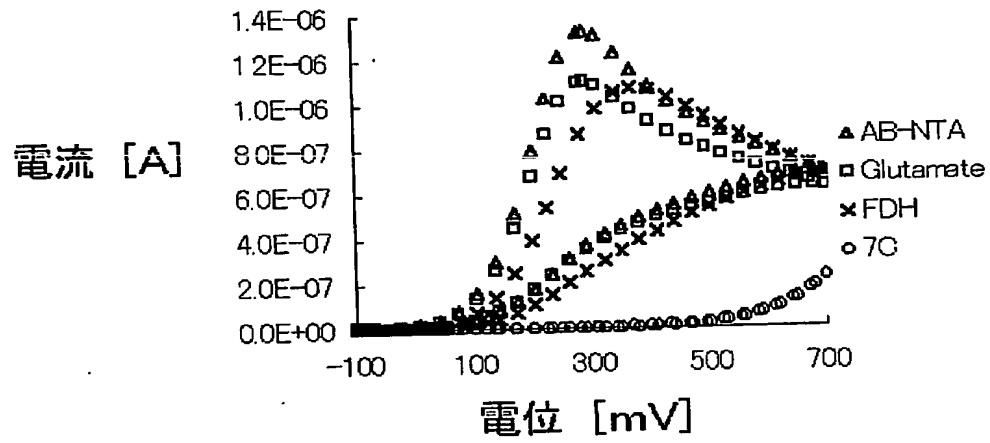


【図 4】

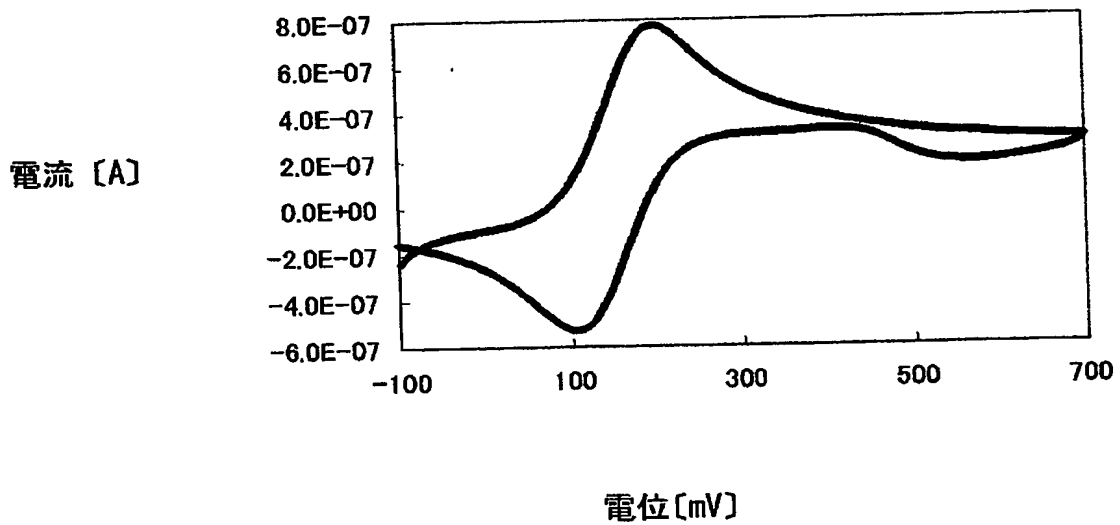




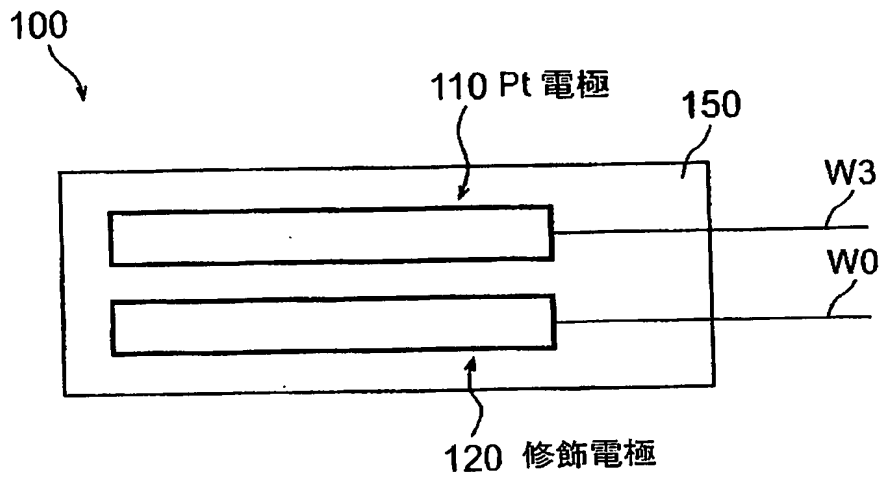
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 自己組織化単分子膜を用いて測定対象物の計測における干渉物質の影響を抑制し、計測精度を向上可能な電極、およびこの電極を用いたセンサーを提供する。

【解決手段】 本発明に係るセンサーは、作用電極としての修飾電極 12 と、対向電極としての白金線とを有する。修飾電極 12 は、電極基材としての金電極 16 と、FDHを用いたフルクトース計測のための電気化学的反応を金電極 16 において発生させるメディエータとしての $\text{Co}(\text{phen})_3^{2+}$ を選択的に通過させる選択性自己組織化単分子膜 18 とを有する。好適には、修飾電極 12 に電極反応電位を印加するポテンショ・ガルバノスタット装置と、修飾電極 12 と白金線との間に流れる電流に応じてフルクトース濃度を算出するコンピュータとをさらに有する。

【選択図】 図 2

特願 2003-074543

出願人履歴情報

識別番号

[800000080]

1. 変更年月日

2001年 8月30日

[変更理由]

住所変更

住所

東京都八王子市旭町9番1号 八王子スクエアビル11階

氏名

タマティーエルオー株式会社

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**